

美国 EPA3546 新方法---微波快速溶剂萃取技术

刘伟 张明祥 杨海鹏

(美国 CEM 公司, 北京, 100013)

摘要: 由加拿大环保局和美国CEM共同开发的MARSX快速微波溶剂萃取技术, 是世界上唯一专利的微波萃取技术, 也是唯一符合美国EPA3546方法的仪器。MARSX获98年度全美R&D100大奖, 低功率先行非脉冲微波磁控管技术实现连续高精度过程控制反应, MARSX利用闭环反馈控制技术, 通过高精度高频率的温压控制系统精确调节微波能量输出激发极性试剂, 并且内置CARBOFLON加热和极化非极性试剂, 实现了快速完全的样品萃取制备, 大大提高了现代气/液相色谱测定精度和效率。其主要特点是: 快速, 安全, 批量大, 样品量大, 节省溶剂, 污染小。

前言

样品预处理是样品分析过程中最关键、最耗时的环节。在现代化实验室高度重视速度和效率的今天, 探索快速、高效、简便、自动化的样品预处理新方法已成为当代分析化学的前沿课题和重要研究方向之一。萃取是分离和提纯物质的一种常用方法, 为 GC、HPLC 等有机分析方法提供样品前处理。传统的萃取方法由于费时、费试剂、效率低、重现性差等缺点, 已不能满足分析发展的需要, 于是先后出现了微波辅助萃取 (MAE)、超临界流体萃取 (SFE) 和加速溶剂萃取 (ASE) 等萃取方法。但由于技术、成本和效率等问题, 一些萃取方法在使用中受到了限制, 而微波萃取则克服了以上的缺点, 表现出了巨大的应用潜力和良好的发展前景。自从 1986 年匈牙利学者 Ganzler 提出了微波萃取法并从土壤、种子、食品、饲料中萃取分离化合物以来^[1], 微波萃取技术以高效、低耗、无污染, 成为近年来萃取技术的佼佼者, 被誉为“绿色”萃取技术。

微波是指频率为300到300 000MHz 的电磁波, 介于红外线和无线电波之间。民用微波频率一般采用2450MHz, 所对应能量大约为0.96J/mol, 微波的量子能级属于范德华力 (分子间作用力) 的范畴, 与化合物键能相差甚远^[2]。USEPA通过对17种稠环芳香碳氢化合物、14种苯酚类化合物、8种碱性/中性化合物以及20种有机农药的研究认证了微波萃取法不会破坏任何被测分析物的分子结构。微波在传输过程中依介质性质不同, 会产生反射、吸收和穿透现象, 这取决于材料本身的几个主要特性参数: 介电常数、偶极矩、介电损耗因子和损耗tan 等^[3]。在微波萃取中, 被处理的物质通常是能够不同程度吸收微波能量的介质, 整个加热过程是利用离子传导和偶极子转动的机理, 具有反应灵敏、升温速度快、效率高等优点。

微波萃取的机理可从两方面考虑: 一方面是微波射线自由透过透明的萃取介质, 深入到生物材料的内部维管束和腺胞系统。由于吸收微波能, 物料内部温度突然升高, 在天然物料中的维管束和腺胞系统升温更快, 保持此温度直至其内部压力超过细胞壁膨胀的能力, 细胞破裂。位于细胞内的有效成分从细胞壁自由流出, 传递到萃取溶剂里。另一方面, 由于不同物质的tan 值不同, 对微波能的吸收程度也不同, 微波可以对体系中不同组分进行选择性的加热, 从而使被萃取物质从基体或体系中分离出来, 进入到萃取溶剂中。

1. MARSX 微波快速溶剂萃取和微波消解的技术差异

微波消解技术是在酸条件下利用微波辐射能量作用于分子上, 使之离子化, 目的是破坏分子键。而微波萃取则是利用微波辐射能量在溶剂的辅助下使分子从样品基体上分开, 在剥离过程中不能破坏分子结构和分子键。因此两者对微波能量发射要求是不同的, 萃取时微波能量发射要尽可能微量低调, 温度控制要十分准确。

微波萃取仪器根据萃取状态的不同一般分为密闭高压微波萃取和常压回流微波萃取两大

类。

密闭微波萃取技术是由密闭容器中酸消解样品和液固萃取有机物两种技术组合演变而来的，与微波消解相比，其研究和应用还处于初始阶段^[4]。传统的微波发射方式，其边界条件不可测量不可定量，更有脉冲微波会产生瞬间高阈值电磁脉冲能量而可能破坏所萃取的有机分子形态的担心，所以实验重复性往往难以令人满意。直到 1998 年，CEM 公司开发出了新型 ACCUPOWER 连续低功率先行专利技术，并应用到微波萃取研究中，使得微波萃取实验达到更好的重复性和平行性。MARSX 的微波能量输出可控制性大大提高，消除了微波脉冲潜在的破坏性，从而可以完整保持待测萃取物分子形态。

低能量微波依然可促使分子产生高速偶极旋转，辅以高温和高压迅速克服基质与被分析物间的分子作用力，使被分析物从基质中解析出来并快速进入萃取溶剂。由于被分析物瞬间溶出，避免了长时间高温导致的样品分解，有利于萃取热不稳定性物质，保持待测萃取物分子形态，特别适合于处理热敏性组分或从天然物质中提取有效成分。

2．微波快速溶剂萃取技术优势

与其他萃取技术如索氏提取、自动索氏抽提、超声萃取、ASE、SFE 和传统分液漏斗振荡等方法相比，微波快速溶剂萃取效率高，回收率高，安全性好，使用方便。表 1 为 10 克样品利用微波快速溶剂萃取与其他的萃取方法的比较，从表中可以看出 MAE 和 ASE 在溶剂使用量上和萃取时间上都有很大的优势，但是 MAE 具备了 ASE 所没有的大批量、大样品量处理的能力，回收率上也可看出微波辅助萃取技术要优于其他技术。因此微波萃取技术被美国环保局认定为标准方法 EPA3546，应用于挥发性有机物和半挥发性有机物的萃取，与 ASE 快速溶剂萃取技术 EPA3545 标准方法并行采用。同时微波萃取技术也符合 ASTM D5765 和 ASTM D6010，分别用于密闭式微波萃取土壤及沉积物中的总石油碳氢化合物和密闭式微波萃取固体材料中的有机物。

微波快速溶剂萃取技术主要有以下优点：

- 1) 溶剂用量少。10g 样品仅需 10 ~ 30mL 溶剂，试剂量只为常规萃取的 1/15 左右。
- 2) 微波萃取法回收率和重复性普遍优于其他萃取方法^{[5][6]}。
- 3) 微波萃取仪萃取容器每罐可达 50-100mL 容积，加入样品量可达 10 ~ 50g，每批样品处理只需要 5 ~ 20 分钟即可达到非常好的萃取效果。
- 4) 微波萃取法不受含水量的影响。EPA 用 MARSX 对不同含水量的土壤中农药的回收率进行了分析（见图 1），认为微波萃取前可以无需样品干燥，这大大提高了分析的工作效率。微波萃取免除了萃取前的样品干燥处理，因此样品含水量比其他的萃取技术对基体影响更小。

表 1 萃取 10 克样品微波快速溶剂萃取与其他的萃取技术比较

技术方法	溶剂使用量	萃取时间	温压	每次批处理量	回收率
索氏提取	200 ~ 500mL	240min-48h	沸点常压	1 个样	中
自动索氏提取	50 ~ 100 mL	60-240 min	沸点常压	1 个样	中
超声萃取	150 ~ 200 mL	30-60 min	沸点常压	1 个样	低
ASE 溶剂萃取	15 ~ 30 mL	12-30min	高温高压	1 个样	较高
MAE 萃取	10 ~ 35 mL	5-20min	高温高压	14-40 个样	高

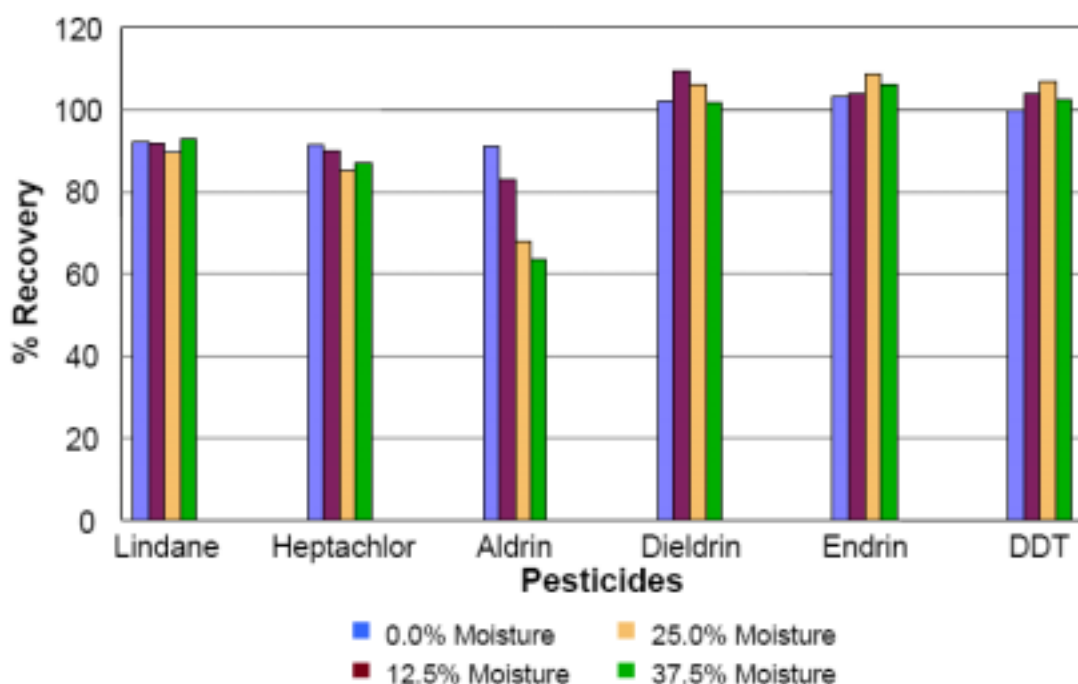


图 1 不同含水量对土壤中农药残留的回收率影响

3. MARSX 萃取系统的技术特点

EPA3546 标准方法以 MARSX 微波萃取仪为基础,并经过加州 EPA 对 MARSX 的评估,批准 MARSX 作为唯一标准萃取仪器^[7]。密闭微波萃取仪由于其反应过程中可能产生高压,所以在仪器微波腔体和反应罐设计上必须有特殊考虑。MARSX 是 CEM 公司新一代的密闭高压微波萃取仪,拥有许多先进技术和专利,更由于其低功率先行技术获得了 98 年度全美 R&D100 大奖。

- 1) CEM 专利的 ACCUPOWER 技术。ACCUPOWER 无须功率设定,反应过程中功率可以随反应自动调整输出。MARSX 低功率优先连续微波输出,根据密闭罐中反应条件的变化实时精确控制和调整微波发射功率,保持了待测萃取物分子形态的完整性,相比其他简单的设定固定功率输出的脉冲微波技术产品有根本性的技术进步。
- 2) CARBOFLON 强极性激活技术。通过内置极化 CARBOFLON 加热和极化非极性试剂,使非极性试剂也能在微波场下迅速加热,从而使微波快速溶剂萃取技术可广泛适用于包括极性和非极性的各种试剂。图 2 为在微波作用下非极性正己烷溶剂在加入 Carboflon 后,其升温效果达到了极性丙酮溶剂的效果,扩大了微波萃取中非极性溶剂的使用范围。
- 3) RTP 光纤温度传感系统。由于热电偶传感器在微波电磁场中会产生打火花现象,极易引起有机试剂爆炸,且由于其检测精度和响应时间慢等原因,一般不用于精确过程控制。RTP 温度控制系统采用高频率和高精确的光纤温度传感器,采用高纯度熔融二氧化硅直接制成,无电磁干扰,避免了微波腔内的爆炸危险性。高频光纤 RTP 传感器,可随时观察到反应罐内的温度数值并反馈给 ACCUPOWER 系统,精确监控萃取变化过程。

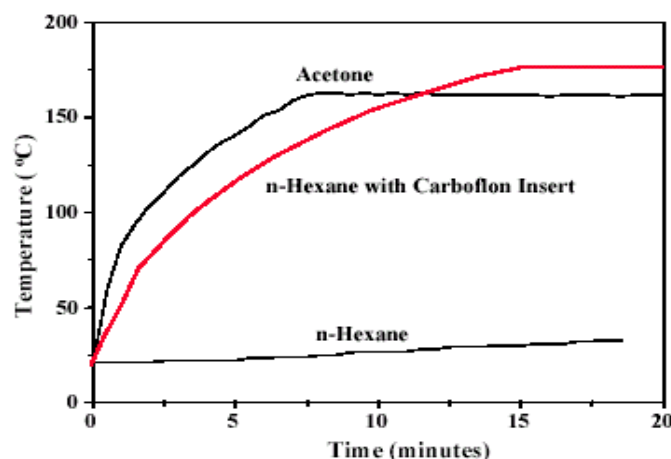


图 2 加入 Carboflon 升温效果对比

- 4) 底部 IR 全罐测温系统。CEM 独有的底部 IR 技术可同时监测所有反应罐中的温度，并随时与 RTP 进行相互温度标定，保证系统的精度和可靠性。
- 5) 大批量和大样品量的处理能力。MARSX 微波快速溶剂萃取批处理达到 14-40 个样，进行固体半固体萃取的效率远远高于任何其他萃取技术。
- 6) 高速磁搅拌系统。由于电磁搅拌的作用，增进了萃取容器中气、液、固之间的充分接触，减少试剂使用以及污染，大大缩短萃取时间，提高萃取回收率。
- 7) 高灵敏度有机试剂检测系统。微波萃取一般在高压密闭容器中进行，如果实验条件控制不好，造成萃取试剂泄漏后在微波场中很容易造成危险。CEM 设计了一套高灵敏有机试剂检测系统，一旦检测值达到丙酮混爆值下限的 20% 时即发出警告并自动停止微波发射，避免了潜在危险。
- 8) MARSX 反应容器密闭保证萃取过程中不泄漏挥发性物质和有机溶剂，宇航纤维复合材料的耐压外套和垂直定向防爆设计保证安全性。

4. 微波快速萃取在农业和食品的应用

微波快速溶剂萃取技术已经广泛应用于农产品、食品、环境土壤监测、烟草、化妆品、造纸、中医药材、石化等等领域。例如监测土壤、淤泥等中有毒有害物质的污染情况^{[8][9]}、萃取 PVC 中增塑剂等^[10]。

1) 农业领域

微波快速溶剂萃取种子中的油；萃取谷物、蔬菜、水果、茶叶、鱼肉和其他动物组织中农药残留如：有机氯、有机磷杀虫剂、除草剂、多氯联苯、多环芳烃和二噁英等；萃取动物饲料中的农残；萃取动物肝脏和组织中兽药代谢及残留。CEM 在 2000 年度 Pittsburgh 会议上报告了从鱼肉组织中萃取 4,4-DDT, 2,4-DDT, 4,4-DDD, 4,4-DDE, Nonachlor, α -Chlordane 农药残留^[11]，图 3 所示的实验回收率表明 MAE 法的回收率可与传统 soxhlet 法相媲美，而且大部分分析结果均优于 soxhlet 法。

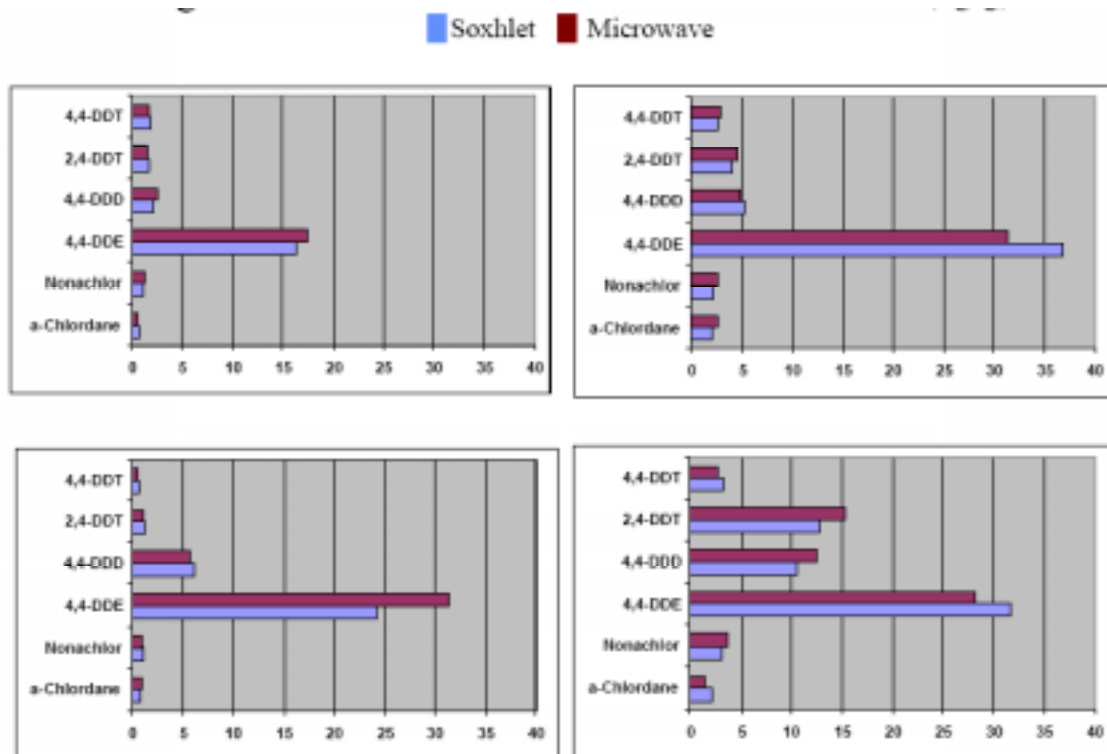


图3 微波法与索氏法萃取鱼肉组织中农药含量对比图 (ng/g)

罗建波等人利用微波萃取和气相色谱法测定果蔬中农药残留，研究结果表明微波萃取法试剂消耗小，样品量小，回收率高，指出 MAE 对有机物的萃取具有广阔的应用前景^[12]。郑孝华研究了微波辅助液剂萃取方法分析蔬菜、水果中的多种拟除虫菊酯残留，与已有的国标方法相比，有机溶剂用量少，操作简便，提取液无须严格净化便可进行 GC/MS 分析，大大提高了分析速度，而且可以避免农药残留检测中的假阳性现象^[13]。

2) 食品领域

食品安全与人类的健康有着最直接的联系，越来越引起世界各国的重视。在食品安全中，又以病菌污染、重金属污染和农药残留最为人们关注。建立一个从食品复杂基体中萃取出有害物质的有效分析方法正成为全世界科学家们所面临的一个重要课题。

微波萃取用于非挥发性食品中有效成分、低挥发性香料的提取处理和果品中痕量金属提取，可大幅度提高物质的提取速度，同时各种有效成分特别是热敏性成分不会发生改变。例如橘皮用微波加酸液萃取果胶，与传统法相比，工时缩短，酒精用量减少；微波提取马郁兰油产量高，由于微波的选择性加热特点，尤其对萜烯等成分很有效；微波萃取鱼肝油与一般提取法相比，脂溶性维生素破坏较少；微波萃取薄荷精油，利用己烷，萃取所得的薄荷精油质量优于水蒸汽蒸馏所得的薄荷油。

Vazquez等人用微波萃取法提取熟肉中的盐霉素，盐霉素经二甲基氨基苯甲醛(DMABA)衍生化用HPLC检测。Wieteska等人用微波萃取法萃取了蔬菜样品中的痕量金属。Wang 等人萃取了咖啡、饮料、口香糖和薯条中的调味剂；Croteau等人萃取并测定了猪肝、猪肾和猪肉中的3-硝基4-羟基-苯甲酸；Hummert 等萃取并测定了海洋哺乳动物脂肪组织中的有机氯化合物。Judith等人采用微波萃取和ICP/MS联用测定了龙虾中微量元素，其中砷、镉元素回收率较高^[14]。宋欢等人采用微波萃取和气相色谱法测定兔肉中的有机氯农药残留，测定结果与国家标准方法结果相当^[15]。Greenway和Kometa也报道了一种在线微波萃取方法用于测定食品中维生素^[16]，他们认为用微波法萃取食品中淡黄霉素精确性高、重复性好、效率高，是食品工业中一种极具发展前景的方法之一。

5. 结论

微波萃取技术作为一种新型前处理手段，具有简便快速、使用安全、试剂用量少、制样精度高、回收率高、处理批量大、萃取物结构完整等优点。这些优点为微波萃取技术的发展开辟了广泛的应用前景，分析过程简便快速降低了分析人员的劳动强度，安全无污染保护了生态环境。微波萃取不仅在理论上是一个很好的研究课题，而且在农业、食品业等一些分析应用领域微波萃取也必将会逐渐取代常规萃取方法。

CEM公司新型的MARSX微波萃取仪克服了传统微波仪器的缺点，拥有高可控性和低功率优先以及高安全设计，可以预见其在未来分析研究中将具有广泛的应用前景。随着微波萃取技术在工农业中的普及，MARSX作为一种顺应潮流的高新技术必将得到迅速的发展和应用。

参考文献：

- ¹ Ganzler K, Salgo A, Valko K.J. *Chromatogr*, 1986,371
- ² Brittany L. Hayes. *Microwave Synthesis*, CEM Publishing, 2002
- ³ 金钦汉主编. *微波化学*，科学出版社，2001
- ⁴ Galema S.A. *Chem. Soci.* 1997,26(3)
- ⁵ Lopez-Avila, Viorica, Richard Young, and Nataly Teplitsky. *Journal of AOAC International* 79 (1):143:156, 1996
- ⁶ Lopez-Avila, Viorica, Richard Young, Janet Benedicto, Pauline Robert Kim, and Werner F. *Analytical Chemistry*, 67(13):2096-2102, July 1995.
- ⁷ www.dtsc.ca.gov/sppt/pptd/td/techcert.html
- ⁸ Greg LeBlanc. LC GC current trends and development in sample preparation. 1999,6
- ⁹ A. Eiguren Fernandez, Z. Sosa Ferrara, JJ Santana Rodriguez. *Analytica Chimica Acta* 433 (2001) 237-244.
- ¹⁰ Mike Miller .Microwave Assisted Solvent Extraction of Poly Vinyl Chloride (PVC) for Analysis of Plasticizers by Gas Chromatography. 1999 Pittsburgh Conference
- ¹¹ Miller ,Michael. Application and Advancements of microwave Accelerated Extraction. 2000 Pittsburgh Conference
- ¹² 罗建波，黄伟雄. *中国公共卫生* 2002.3
- ¹³ 郑孝华. *分析化学* 2004.2
- ¹⁴ Brisbin and Joseph A. Caruso. *Analyst* 2002,127
- ¹⁵ 宋欢、薛平、李凌云. *山西农业大学学报* 2002
- ¹⁶ Greenway G.M., Kometa N. *Analyst* 1994.119